

PENGHAMBATAN PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* DAN *Eschericia coli* OLEH KOMBINASI EKSTRAK METANOL RIMPANG *Alpinia purpurata* DAN *Zingiber officinale*

Azarine Syifaa' Ogana, Erna Sulistyowati, Ike Widyaningrum*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Masyarakat Indonesia telah banyak memanfaatkan tanaman herbal termasuk diantaranya rimpang *Alpinia purpurata* (*A. purpurata*) dan *Zingiber officinale* (*Z. officinale*) sebagai antibakteri. Walaupun penggunaan kedua rimpang tersebut telah banyak, namun belum ada bukti saintifik terkait hal tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk identifikasi efektifitas antibakteri kedua rimpang tersebut.

Metode: Penelitian *in vitro* pada koloni bakteri *S. aureus* dan *E. coli* ini menggunakan ekstrak metanol dengan metode soklet untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi rimpang *A. purpurata* dan *Z. Officinale*. Perbandingan (P) *A. purpurata* dan *Z. Officinale* yaitu P1(25:75), P2(50:50), P3(75:25). Sebelumnya perlakuan, uji skrining fitokimia kami lakukan untuk mengetahui metabolit sekunder. Selanjutnya uji antibakteri pada *S. aureus* atau *E. coli* menggunakan metode difusi cakram dan pengukuran *zone of inhibition* (ZOI). Amoksisilin dan asam nalidiksik digunakan sebagai pembanding. Analisa data menggunakan uji *one way* ANOVA dengan taraf signifikansi adalah $p < 0,05$.

Hasil: Skrining fitokimia rimpang *A. purpurata* dan *Z. officinale* menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, tanin dan fenol. Hasil ZOI pada *S. aureus* pada kelompok P1, P2 dan P3 berturut-turut $6,43 \pm 0,55$, $6,66 \pm 1,40$ dan $6,60 \pm 0,70$ mm. Sedangkan, hasil ZOI pada *E. coli* pada kelompok P1, P2 dan P3 berturut-turut $7,40 \pm 0,30$, $8,26 \pm 0,64$ dan $7,96 \pm 1,00$ mm. Amoksisilin dan asam nalidiksik menunjukkan hasil ZOI yang lebih besar..

Kesimpulan: Kombinasi ekstrak metanol *A. purpurata* dan *Z. officinale* memiliki potensi aktivitas antibakteri baik pada *S. aureus* maupun *E. coli*.

Kata kunci: *Alpinia purpurata*, *Zingiber officinale*, aktivitas antibakteri

*Korespondensi:

Ike Widyaningrum, S.Farm, M.Farm

Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145 Telp.0341 578920

e-mail: ike@unisma.ac.id

INHIBITION OF *Staphylococcus aureus* and *Eschericia coli* BY THE COMBINATION OF METHANOLIC EXTRACT OF *Alpinia Purpurata* and *Zingiber officinale* RHIZOME

Azarine Syifaa' Ogana, Erna Sulistyowati, Ike Widyaningrum*
Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

ABSTRACT

Introduction: Indonesian society have been widely using herbal plants including *Alpinia purpurata* (*A. purpurata*) and *Zingiber officinale* (*Z. officinale*) rhizomes as an antibacterial. Although people are extensively taking benefit of these rhizomes, but saintific proofs are needed to provide enough evidence. This study aimed to identify whether these rhizomes possess the antibacterial effectiveness.

Methods: This *in vitro* study on *S. aureus* dan *E. coli* colonies were using methanolic extract with soxlet method to evaluate antibacterial activity of combination (P) of *A. purpurata* and *Z. officinale* rhizomes with the ratios as follows P1(25:75), P2(50:50), P3(75:25). Initially, we screened the phytochemical secondary metabolites. Then, the antibacterial tests were carried out using disc diffusion, by measuring the zone of inhibition (ZOI). Amoxicillin and nalidixic acid were used as comparisons. Data were analysis using one way ANOVA test with a significance level of $p < 0,05$.

Results: *Alpinia purpurata* and *Z. officinale* rhizomes contain alkaloids, flavonoids, tannins and phenols. The ZOI results of *S. aureus* on P1, P2 and P3 were 6.43 ± 0.55 , 6.66 ± 1.40 , and 6.60 ± 0.70 mm. However, ZOI results of *E. coli* on P1, P2 and P3 were 7.40 ± 0.30 , 8.26 ± 0.64 , and 7.96 ± 1.00 mm. The Amoxicillin and nalidixic acid showed larger ZOI.

Conclusion: The combination of *A. purpurata* and *Z. officinale* methanol extracts provide antibacterial activity against *S. aureus* and *E. coli*.

Keywords: *Alpinia purpurata*, *Zingiber officinale*, Antibacterial activity

*Correspondence to:

Ike Widyaningrum, S.Farm, M.Farm

Jl. MT Haryono 193 Malang City, East Java, Indonesia, 65145 Phone. 0341 578920

e-mail: ike@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Resistensi antibiotik merupakan masalah dalam dunia kesehatan. Menurut hasil Riset Kesehatan Dasar 2013 (Riskesdas), 35,2% rumah tangga menyimpan obat untuk pengobatan sendiri. Berdasarkan 35,2% rumah tangga yang memiliki obat, 35,7% menyimpan obat keras dan 27,8% di antaranya menyimpan sekitar 86,1% antibiotik tanpa resep. Hal yang dapat memicu terjadinya resistensi antara lain penyalahgunaan obat (*overdosis*), efek samping obat, dan interaksi atau penyalahgunaan obat., yang masih sering dijumpai pada masyarakat. Sehingga di butuhkan inovasi dalam mengatasi hal tersebut.¹ Kombinasi herbal sebagai antibakteri adalah alternatif dalam permasalahan ini.

Hasil penelitian sebelumnya, melaporkan adanya senyawa metabolit sekunder pada rimpang *A. purpurata* yaitu golongan fenolik, flavonoid, alkaloid, triterpenoid, steroid dan tanin.² Ekstrak rimpang *Z. officinale* memiliki senyawa bioaktif yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba yaitu minyak atsiri, fenol, flavonoid, dan terpenoid.^{3,4} Didukung pada penelitian sebelumnya dilaporkan bahwa masing masing ekstrak tunggal rimpang *A. purpurata* dan rimpang *Z. officinale* memiliki zona hambat terhadap gram positif dan gram negatif.^{5,6}

Dalam penelitian ini kedua ekstrak dari rimpang *A. purpurata* dan *Z. officinale* akan dikombinasikan untuk memperkuat aktivitas antibakteri. Dari penelitian sebelumnya menjelaskan bahwa kombinasi ekstrak beberapa tanaman memiliki daya hambat antibakteri lebih besar daripada menggunakan ekstrak tanaman tunggal. Karena selain memiliki bioaktivitas yang lebih tinggi, hasil kombinasi herbal memiliki aktivitas yang luas terhadap sejumlah besar bakteri.⁷

Penelitian sebelumnya kombinasi ekstrak rimpang Saluang Belum (*Lavanga sarmentosa*) dan rimpang Kuning (*Arcangelisia flava* Merr) dan mengkudu terbukti memiliki aktivitas antibakteri.⁸ Namun, belum ada penelitian yang mengkombinasi rimpang *A. purpurata* dan rimpang *Z. officinale*. Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian kombinasi ekstrak rimpang *A. purpurata* dan rimpang *Z. officinale* dengan tujuan membuktikan aktivitas antibakteri dari kombinasi kedua ekstrak dapat menghambat pertumbuhan koloni *S. aureus* dan *E. coli*.

METODE PENELITIAN

Desain, Waktu, dan Tempat Penelitian

Penelitian eksperimental laboratorik *in vitro* menggunakan *S. aureus* dan *E. coli* untuk melihat aktivitas antibakteri. Penelitian ini dilakukan di LPRK Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang pada bulan Januari hingga Juni 2021.

Sampel Penelitian

Sampel *S. aureus* dan *E. coli non pathogenic* didapatkan dari LPRK Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. Simplisia *A. purpurata*

dan *Z. officinale* di determinasi oleh UPT Balai Materia Medica Kota Batu.

Pembuatan Ekstrak Metanol *A. purpurata* dan *Z. officinale* dengan Metode Soklet

Pembuatan ekstrak dilakukan pada masing – masing simplisia dengan menggunakan pelarut metanol dengan perbandingan 1:10. Perbandingan simplisia masing-masing sebanyak 50 gram dengan 500 ml pelarut. Simplisia diekstrak menggunakan alat soklet merk isopad hingga didapatkan filtrat. Filtrat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga pelarut menguap. Selanjutnya, diuapkan dengan waterbath dengan suhu kurang lebih 60°C hingga diperoleh ekstrak kental.

Screening Fitokimia

Uji ekstrak metanol dilarutkan dalam 20 ml pelarut untuk pengujian skrining fitokimia. Seperti yang sudah dilakukan pada penelitian sebelumnya, uji positif alkaloid dengan pereaksi Mayer memiliki endapan putih, sedangkan pereaksi Dragendroff membentuk endapan jingga kecoklatan. Pada flavonoid terdeteksi adanya warna merah jingga. Uji positif saponin menunjukkan busa stabil setinggi 1-10 cm selama kurang lebih 10 menit. Uji positif tanin menunjukkan warna biru kehitaman atau kehijauan. Adanya steroid menunjukkan warna biru atau hijau, dan warna merah atau ungu pada terpenoid. Uji fenol positif adanya warna hitam menunjukkan adanya senyawa fenolik.^{9,10,11}

Pembuatan Kombinasi Ekstrak Metanol *A. purpurata* dan *Z. officinale*

Ekstrak sebanyak 100 mg dari masing masing ekstrak di larutkan dalam 100 ml metanol dengan perbandingan P1 (25%:75%), P2 (50%:50%), P3 (75%:25%). Variasi konsentrasi dari 1000 ppm, dosis yang digunakan 25 mg untuk 25%, 50 mg untuk 50%, 75 mg untuk 75% kemudian di celupkan cakram untuk ditanamkan pada cawan petri.¹²

Penentuan Zone of Inhibition

Metode difusi cakram digunakan untuk melihat zona inhibisi pada media *Mueller Hinton Broth* dan agar. Pada media yang sudah memadat dimasukkan cakram kertas dengan diameter 3 mm, masing-masing diisi dengan larutan ekstrak herbal, kontrol negatif (pelarut), dan kontrol positif (antibiotik + media) dengan dosis cakram pada antibiotik amoksisilin 25 mcg, dan dosis antibiotik asam nalidiksat 30 mcg, tiap tahap dilakukan secara aseptis. Selanjutnya diinkubasi dengan suhu 37 °C selama 24 jam, zona hambat diukur dari diameter pada daerah bening pada cakram menggunakan jangka sorong dengan satuan milimeter.¹³

Analisa data

Analisa data statistik dilakukan dengan *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versi 26. Sebelumnya dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas dilanjutkan dengan uji *One-Way ANOVA* kemudian dilanjutkan uji *post – hoc*.¹⁴

HASIL DAN ANALISA DATA

Hasil Screening Fitokimia

Uji fitokimia di lakukan secara kualitatif ini menguji adanya senyawa polar seperti alkaloid, flavonoid, fenol, saponin dan tanin.

Tabel 1 Hasil Uji Skrining Fitokimia Rimpang *A. purpurata* dan *Z. officinale*

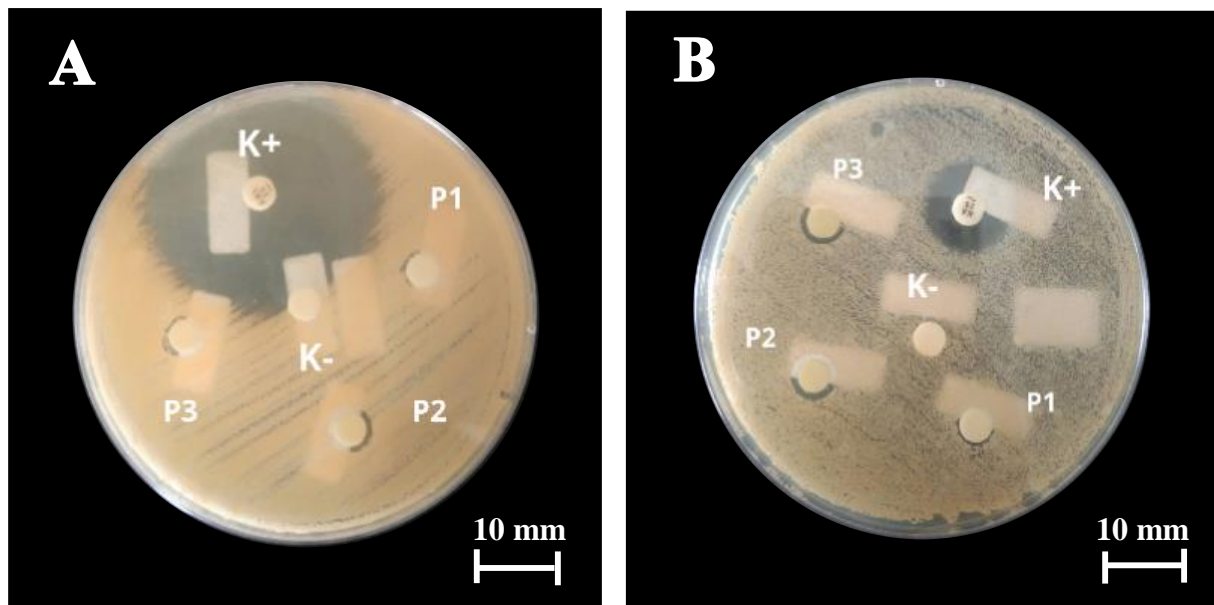
Uji Fitokimia	<i>A. purpurata</i>	<i>Z. officinale</i>
Alkaloid	+	+
Flavonoid	+	+
Saponin	-	-
Tanin	+	+
Fenol	+	+
Terpenoid	-	-
Steroid	-	-

Keterangan : (+) terdeteksi senyawa metabolit ;
(-) tidak terdeteksi senyawa metabolit

Hasil skrining fitokimia sesuai pada **Tabel 5.1** menunjukkan bahwa *A. purpurata* dan *Z. officinale* mengandung alkaloid, flavonoid, fenol dan tanin, dan negatif pada percobaan saponin, steroid dan terpenoid

Hasil *Zone of inhibition* dilakukan tiga kali pengulangan, masing – masing dalam cakram berisi amoksisilin sebagai kontrol positif, kombinasi konsentrasi *A. purpurata* dan *Z. officinale* P1 (25:75), P2 (50:50), dan P3 (75:25) dengan konsentrasi ditemukan zona bening. Pada kontrol negatif tidak ditemukan adanya zona bening. Hasil pengukuran dapat dilihat pada **Tabel 2**

Hasil Uji Zone of Inhibition Kombinasi Ekstrak Metanol *A. purpurata* dan *Z. officinale* terhadap *S. aureus* dan *E. coli* dibandingkan Amoksisilin dan Asam nalidiksot



Gambar 1 Hasil ZOI kombinasi ekstrak methanol *A. purpurata* dan *Z. officinale* terhadap *S. aureus* (A) dan *E. coli* (B).

Tabel 2 Hasil Pengukuran ZOI *S. aureus* dan *E. coli* 1000 ppm

Dosis (<i>Z. officinale</i> : <i>A. purpurata</i>)	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
P1	6,43±0,55	7,40±0,30
P2	6,66±1,40	8,26±0,64
P3	6,60±0,70	7,96±1,00
Amoksisilin	42,43±1,65*	Tidak dilakukan
Asam nalidiksat	Tidak dilakukan	14,53±1,53*
Metanol (Kontrol -)	0±00	0±00

Keterangan : *, Berbeda signifikan.

Berdasarkan hasil zona inhibisi yang terlihat pada **Tabel 2**, dapat dilihat bahwa nilai rata – rata pada tabel tidak didapatkan perbedaan yang signifikan antara P1,P2, dan P3, sedangkan didapatkan perbedaan signifikan terhadap antibiotik, dan tidak memiliki efek pada metanol.

Analisa data statistik penelitian menunjukkan bahwa hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* dari ZOI dengan dosis 1000 ppm dengan data nilai pada *S. aureus* P1, P2 dan P3 berturut-turut 0.174, 0.482, 0.274 dan *E. coli* P1, P2 dan P3 berturut-turut 1.000, 0.298, 0.890 dengan nilai signifikasi $p > 0.05$ yang memiliki makna bahwa data tersebut terdistribusi normal. Selanjutnya pada analisis homogenitas hasil menunjukkan data nilai pada *S. aureus* 0.391 dan *E. coli* 0.090 dengan nilai signifikasi $p > 0.05$, bermakna bahwa data pada penelitian memiliki varian yang sama sehingga dapat dilakukan pengujian berikutnya dengan menggunakan *One Way ANOVA*.

Hasil uji *One Way ANOVA* didapatkan data pada kedua kelompok perlakuan yaitu 0,000 dengan signifikasi $p < 0.05$ menunjukkan adanya perbedaan signifikan. Selanjutnya pada uji *Post-Hoc* didapatkan hasil pada kontrol positif kedua kelompok perlakuan di bandingkan dengan kelompok kombinasi herbal dengan nilai signifikasi $p < 0.05$ yang berarti adanya perbedaan bermakna dibandingkan dengan kelompok kombinasi herbal. Sedangkan tidak adanya perbedaan bermakna didapatkan antara masing masing kelompok kombinasi herbal dengan nilai signifikasi $p > 0.05$.

PEMBAHASAN

Kandungan Senyawa Aktif Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Metanol dengan Metode Soklet *A. purpurata* dan *Z. officinale*

Pada hasil skrining ekstrak metanol *A. purpurata* dan *Z. officinale* didapatkan hasil bahwa keduanya mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan fenol. Hasil skrining fitokimia pada penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa ekstrak metanol *A. purpurata* memiliki senyawa metabolit sekunder yaitu tanin, flavonoid, alkaloid.¹⁵ Pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa *A. purpurata* memiliki kandungan fenol yang bersifat antibakteri.¹⁶ Kemudian pada penelitian lain menunjukan hasil ekstrak etanol *Z. officinale* mengandung senyawa fenolik, alkaloid, flavonoid, dan tanin.¹⁷

Pada penelitian ini menggunakan pelarut polar yaitu metanol. Sesuai prinsip *like dissolve like*, pelarut yang digunakan akan melarutkan senyawa yang memiliki sifat yang sama.¹⁸ Sehingga senyawa non polar seperti terpenoid dan steroid tidak muncul dalam skrining fitokimia. Senyawa lainnya memiliki sifat tidak tahan panas yaitu pada saponin diduga tidak muncul dalam skrining fitokimia karena melewati metode ekstraksi sokletasi dengan pemanasan. Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya bahwa proses pemanasan dapat merusak senyawa bioaktif.¹⁹ Kandungan senyawa metabolit juga dapat dipengaruhi oleh lingkungan termasuk cahaya, nutrisi yang tersedia, komposisi media dan perbedaan morfologis.²⁰ Sehingga dapat mempengaruhi luasnya ZOI pada kombinasi ekstrak metanol *A. purpurata* dan *Z. officinale*.

Perbedaan aktivitas antibakteri pada masing-masing kombinasi ekstrak juga dipengaruhi oleh senyawa aktif dalam ekstrak. Adanya senyawa alkaloid sebagai antibakteri dengan mekanisme mengganggu komponen sel bakteri dari penyusun peptidoglikan sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, menyebabkan lisis pada dinding sel.^{21,22} Senyawa flavonoid memiliki mekanisme antibakteri yang dapat menguraikan protein sel pada bakteri dan dapat merusak membran sitoplasma, menyebabkan kebocoran pada sel. Selain itu, flavonoid dapat menginaktivkan sistem enzim bakteri yang dapat menyebabkan kematian bakteri.^{21,23}

Senyawa tanin sebagai antibakteri bekerja pada polipeptida dinding sel bakteri sehingga pembentukan dari dinding sel menjadi kurang sempurna dan menyebabkan kematian pada sel. Tanin dapat mengganggu jalannya protein pada lapisan dalam sel dan dapat menginaktivkan enzim pada bakteri.^{24,25} Tanin bekerja pada membran sel, dan dapat menonaktifkan fungsi materi genetik pada sel bakteri.^{26,27} Tanin juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri sebagai aktivitas antibakteri dengan mekanisme koagulasi protoplasma pada sel bakteri.^{26,28}

Senyawa fenol dapat menguraikan protein dan merusak membran sel bakteri.^{24,29} Golongan fenol dapat menginaktivkan enzim dan mendenaturasi protein sehingga menyebabkan penurunan permeabilitas dan mengakibatkan kerusakan pada dinding sel. Perubahan permeabilitas membran sitoplasma menyebabkan terganggunya transportasi ion-ion organik ke dalam sel sehingga menghambat

pertumbuhan sel bahkan dapat menyebabkan kematian sel.^{30,31}

Kemampuan Kombinasi Ekstrak Menghambat Koloni *S. aureus*

Kemampuan daya hambat ekstrak kombinasi *A. purpurata* dan *Z. officinale* diduga dipengaruhi efek antagonis pada interaksi antar senyawa kimia yang terkandung pada masing-masing ekstrak. Senyawa metabolit sekunder yang saling berinteraksi memberikan efek penurunan aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Pada teori tanaman obat, terdapat senyawa metabolit lain yang mungkin mempengaruhi respon dari hasil yang diharapkan selain zat aktif sebagai komponen utama yang paling berpengaruh. Hasil penggabungan dua ekstrak pada konsentrasi rendah dapat memiliki efek meningkatkan atau melemahkan satu sama lain.³²

Perbedaan efektifitas terhadap *S. aureus* dan *E. coli* ini dapat terjadi karena struktur dinding bakteri itu sendiri. Bakteri gram positif *S. aureus* memiliki struktur dinding sel yang kaku karena terdiri dari peptidoglikan yang lebih tebal pada dinding sel.³³ Mekanisme amoksisilin akan berikatan pada protein membran, penisilin binding protein 1A(PBP-1A) pada dinding sel. Kemudian membentuk ikatan silang antar peptidoglikan yang akan menghancurkan enzim transpeptidase dalam pembentukan dinding sel. Sehingga, tekanan intrasel meningkat, dinding sel bakteri menjadi rapuh, terjadi osmosis dan lisis.³⁴ Amoksisilin bekerja dengan menghambat ikatan silang antara rantai polimer peptidoglikan linier yang membentuk komponen utama dinding sel bakteri gram positif dan komponen kecil bakteri gram negatif. Sehingga, amoksisilin bekerja lebih efektif pada bakteri gram positif.³⁵

Hal tersebut didukung oleh hasil pada ketiga perbandingan ZOI dari *S. aureus* dan *E. coli* didapatkan tidak adanya perbedaan bermakna karena kinerja antibakteri yang kurang aktif dalam menghambat bakteri tersebut dipengaruhi oleh interaksi antara senyawa aktif antibakteri dalam kombinasi ekstrak *A. purpurata* dan *Z. officinale* serta kandungan senyawa lain yang dapat mempengaruhi kerja dari aktivitas antibakteri. Besar zona hambat dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti laju difusi, jenis media agar yang digunakan, jumlah organisme yang diinokulasi, laju pertumbuhan bakteri, konsentrasi bahan kimia, dan kondisi pada inkubasi.³⁶

Kemampuan Kombinasi Ekstrak Menghambat Koloni *E. coli*

Hasil zona hambat dari kombinasi ekstrak pada penelitian ini didapatkan diameter lebih kecil daripada kontrol positif antibiotik. Hal tersebut sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa faktor yang mempengaruhi adalah MIC (*minimal inhibitory concentration*) dari antibiotik sudah diketahui, sedangkan kemampuan konsentrasi kombinasi ekstrak herbal yang digunakan belum diketahui.³⁸ Selain itu, efek farmakologis lemah,

bahan baku yang belum terstandar, belum dilakukan uji klinik dan resiko mudah tercemar berbagai jenis mikroorganisme menjadi kelemahan dari kombinasi herbal *A. purpurata* dan *Z. officinale*. Sehingga menyebabkan kemampuan antibakteri yang dihasilkan tidak sebanding dengan amoksisilin dan asam nalidiksat sebagai pembanding.³⁹

Bakteri gram negatif *E. coli* memiliki struktur dinding sel yang relatif lebih kompleks dan berlapis karena terdiri dari lipoprotein, lipopolisakarida, dan peptidoglikan.³³ Mekanisme antibakteri dari asam nalidiksat membentuk ternern kuinolon-topoisomerase-DNA kompleks, sehingga menghambat sintesis DNA dan menyebabkan kematian sel bakteri.^{39,40} Obat ini adalah inhibitor DNA gyrase yang sangat spesifik, dengan menggunakan energi dari hidrolisis ATP topoisomerase, dapat menutup DNA sirkuler yang mengkatalisis pengenalan superkoil negatif.⁴¹ Hal tersebut sesuai dengan teori bahwa penghambatan dari DNA gyrase adalah target primer untuk bakteri Gram-negatif.⁴²

Peneliti meninjau dari kriteria kekuatan daya hambat, apabila diameter zona hambat 20 mm atau lebih termasuk kategori sangat kuat, 10-20 mm kategori kuat, 5-10 mm kategori sedang, dan 5 mm atau kurang masuk dalam daya antibakteri kategori lemah.^{43,44} Sehingga kriteria daya hambat kombinasi ekstrak metanol *A. purpurata* dan *Z. officinale* terhadap *S. aureus* dan *E. coli* termasuk dalam kategori sedang. Zona hambat memiliki acuan untuk menentukan resistensi bakteri terhadap antibiotik, yang ditunjukkan pada diameter zona bening. Ada tiga tingkat resistensi bakteri yaitu sensitif bila terbentuk zona bening, intermediet bila terbentuk zona bening, tetapi dengan diameter kecil dan resisten yaitu tidak terbentuk zona bening.¹³

KESIMPULAN

1. Kombinasi ekstrak *A. purpurata* dan *Z. officinale* tidak memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dibandingkan kontrol negatif.
2. Kombinasi ekstrak *A. purpurata* dan *Z. officinale* memiliki daya hambat terhadap *S. aureus* dan *E. coli* dibandingkan kontrol negatif.
3. Kombinasi ekstrak *A. purpurata* dan *Z. officinale* memiliki daya hambat yang lebih kecil dibandingkan antibiotik
4. Kombinasi ekstrak metanol *A. purpurata* dan *Z. officinale* memiliki metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, tanin dan fenol.

SARAN

1. Peneliti memilih jenis metode ekstraksi, pengambilan bahan dan identifikasi senyawa lainnya untuk mengoptimalkan kandungan senyawa aktif.
2. Peneliti melakukan penelitian secara *in vivo* dan *in silico* untuk mengetahui efektifitas antibakteri.

3. Peneliti memperhatikan prosedur pengambilan foto yang baik dan benar.
4. Peneliti melakukan uji fraksinasi untuk melihat komposisi dari kandungan ekstrak.
5. Peneliti mengkombinasi masing masing ekstrak hasil fraksinasi.
6. Peneliti menggunakan view drugs sebagai pembandingan dengan mekanisme yang berbeda.
7. Penelitian selanjutnya menggunakan kombinasi herbal dan ekstrak tunggal

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang dan Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) yang telah berpartisipasi menyumbangkan dana penelitian ini, dan kelompok penelitian yang mendukung penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2021). Retrieved 25 September 2021, from <https://www.kemkes.go.id/article/view/15112700005/pemahaman-masyarakat-akan-penggunaan-obat-masih-rendah.html>
2. Subash K.R MBGJRNVC. Phytochemical screening and acute toxicity study of ethanolic extract of *Alpinia galanga* in rodents. **Int J Med Res Heal Sci**. 2013;2(1):93–100.
3. Nursal W, Sri dan Wilda S. Bioaktivitas ekstrak jahe (*Zingiber officinale* Roxb.) dalam menghambat pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. **Jurnal Biogenesis**, ;2 (2): 64- 66, 2006
4. Mursalin MF, Jamaluddin AW. Aktivitas antimikroba propolis *Trigona* sp dan jahe (*Zingiber officinale roscoe*) terhadap bakteri *Salmonella thypimurium* Aktivitas antimikroba kombinasi ekstrak propolis *Trigona* sp dan jahe (*Zingiber officinale roscoe*). **J Farm**. 2019;11(01):70–4.
5. Widiastuti, D., & Pramestuti, N. (2018). Uji Antimikroba Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. **Sel Jurnal Penelitian Kesehatan**, 5(2), 43-49. doi: 10.22435/sel.v5i2.1489
6. Puasa, N., Fatimawali, F., & Wiyono, W. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumonia* Isolat Urin Pada Penderita Infeksi Saluran Kemih. **Pharmacon**, 8(4), 982. doi: 10.35799/pha.8.2019.29379
7. Otieno J, Hosea K, Lyaruu H, Mahunnah R. RESEARCH PAPER. Plant Biol [Internet]. 2008 May;5:no-no. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1438-8677.2011.00470.x>
8. Maryani, M., Bungas, K., & Anwar, H. (2020). Penggunaan Kombinasi Ekstrak Akar Saluang Belum (*Lavanga sarmentosa*) dengan Akar Kuning (*Arcangelisia flava* Merr) terhadap Daya Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara *In Vitro*. **Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi**, 20(3), 1038. doi: 10.33087/jiubj.v20i3.1015
9. Harborne, J.B. Metode Fitokimia. Terjemahan: Padmawinata, K dan Soediro, Institut Teknologi Bandung:Bandung, 1996
10. Sulistyarini I, Sari Arum D, Wicaksono T. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga... (Sulistyarini, dkk). 2019;56–62.
11. Nasution A, Chikmawati T, Walujo EB, Zuhud EAM. Pemanfaatan Tumbuhan Obat Secara Empiris Pada Suku Mandailing Di Taman Nasional Batang Gadis Sumatera Utara. **J Bioteknol Biosains Indones**. 2018;5(1):64.
12. Santi AM, Tukiran. Uji Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Jambu Bol (*Syzygium Malaccense*) Phytochemical Test Of The Methanol Extract Of The Stem Bark Of Jambu Bol (*Syzygium malaccense*) Ayu Mei Santi.* dan Tukiran Departement of Chemistry ,Faculty Mathemat. **UNESA J Chem**. 2017;6(2):2–6.
13. Weinstein MP, Lewis JS, Bobenchik AM, Campeau S, Cullen SK. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30th ed. CLSI Suppl M100. 2020;Wayne, PA.
14. Trisia A, Philyria R, Toemon An. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kalanduyung (*Guazuma Ulmifolia* Lam.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus Aureus* Dengan Metode Difusi Cakram (Kirby-Bauer). **Anterior J**. 2018;17(2):136–43
15. Enock Kiage Oirere, Palanirajan Anusooriya, Chinthamony Arul Raj, Velliyur Kanniappan Gopalakrishnan, Phytochemical Analysis of NHexane Leaf Extract of *Alpinia Purpurata* (Vieill.) K. Schum Using Uv-Vis, FTIR and GC-MS, **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences** 7,8,(2015) 387-389
16. Guenther,E., Minyak Atsiri. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta. 2006
17. Febriani Y, Riasari H, Winingsih W, Aulifa L, Permatasari A. Potensi Pemanfaatan Jahe Merah (*Zingiber officinale Roscoe*) sebagai Obat Analgetik. Indones **J Pharm Sci Technol**. 2018;1(1):57–64.
18. Arifianti L, Oktarina RD, Kusumawati I, Farmakognosi D, Farmasi F, Airlangga U. Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi Terhadap Kadar Sinensetin Dalam Ekstrak Daun *Orthosiphon stamineus* Benth. **Journal Planta Husada Vol.2,No.1** April 2014. 2014;2(1):3–6.
19. Puspitasari D. Pengaruh Metode Perebusan Terhadap Uji Fitokimia Daun Mangrove *Excoecaria agallocha*. **Acta Aquat Aquat Sci J**. 2019;6(1):423–8.
20. Nurfitriani E. Hubungan Kualitas Air dengan

- Profil Metabolit Sekunder Ekstrak Daging Holothuriaaatra di Perairan Teluk Lampung dan Perairan Garut. Skripsi pogram studi ilmu kelautan. Fakultas perikanan dan ilmukelautan. Universitas Padjadjaran. Jatinangor. 2016.
21. Purbaya S, Aisyah LS, Jasmansyah J, Arianti WE. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Jahe Merah (*Zingiber officinale Roscoe var. sunti*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. **J Kartika Kim.** 2018;1(1):29–34.
 22. Cowan, M. M... Plant Product as Antimicrobial Agents. **Clinical Microbiology Review.** 27(2); 181.1999
 23. Pelczar, M.J. & Chan, E.C.S. Dasar – Dasar Mikrobiologi. UI Press. Jakarta. 1998
 24. Sapara TU, Waworuntu O. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens Balsamina L.*) Terhadap Pertumbuhan Porphyromonas Gingivalis. **Pharmacon.** 2016;5(4):10–7.
 25. Ngajow M, Abidjulu J, Kamu VS, Pengaruh antibakteri ekstrak kulit batang matoa (*Pometia pinnata*) terhadap bakteri *S. aureus* secara *in vitro*. **Jurnal MIPA UNSRAT Online.** 2(2). h. 128-32. 2013.
 26. Alamri F, Jayanto I. 1) 1) , 1) , 1). 2020;9(1):47–54.
 27. Madduluri S, Rao KB, Sitaram B. In vitro evaluation of antibacterial activity of five indigenous plants extract against five bacterial pathogens of human. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science;** 5(4). h. 679-84. 2013
 28. Pratiwi, S. T. Mikrobiologi Farmasi. Jakarta: Erlangga, 2008.
 29. Dwyana Z, Johanes E, Saerong W. Uji ekstrak kasar alga merah (*Eucheuma cottonii*) sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen. **Jurnal Universitas Hassanudin.** h. 4-6, 2011.
 30. Purwantiningsih TI, Suranindyah YY. Aktivitas senyawa fenol dalam buah mengkudu 2014;38(1):59–64.
 31. Damayanti, E. dan T. B. Suparjana. Efek penghambatan beberapa fraksi ekstrak buah mengkudu terhadap *Shigella dysenteriae*. Prosiding Seminar Nasional Tehnik Kimia Keuangan. Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman. Yogyakarta: 30 Januari 2007.
 32. Marianne M, Patilaya P, Barus BT. Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Rimpang Temu Giring (*Curcuma Heyneana*) dan Daun Pugun Tanoh (*Curanga Fel-Terrae*) Menggunakan Metode Diphenyl Picrylhydrazil (DPPH). **Talent Conf Ser Trop**
 33. Jawetz, Melnick, Adelberg's. Selected Medically Important Microorganisms. 2016.
 34. Kaur SP, Rao R, Nanda S. Amoxicillin: A broad spectrum antibiotic. **Int J Pharm Pharm Sci.** 2011;3(3):30–7.
 35. Sumampouw OJ. Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Penyebab Diare Balita Di Kota Manado (*The Sensitivity Test of Antibiotics to Escherichia coli was Caused The Diarrhea on Underfive Children in Manado City*). **J Curr Pharm Sci.** 2018;2(1):105.
 36. Ariyanti NK, Darmayasa IBG, Sudirga SK. Daya Hambat Ekstrak Kulit Daun Lidah Buaya (*Aloe Barbadensis Miller*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Atcc 25923 Dan *Escherichia Coli* Atcc 25922 The Inhibition Of Aloe (*Aloe Barbadensis Miller*) Rind Extract To The Growth Of Bacteria. **J Biol.** 2009;16(1):1–4
 37. Warbung YY, Wowor VNS, Posangi J. Daya Hambat Ekstrak Spons Laut *Callyspongia sp* terhadap Pertubuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*.
 38. Ningsih. IY. Studi Etnofarmasi Penggunaan Tumbuhan Obat Oleh Suku Tengger Di Kabupaten Lumajang Dan Malang, Jawa Timur. 2016;13(01):10–20.
 39. Redgrave LS, Sutton SB, Webber MA, Piddock LJ. Fluoroquinolone resistance: mechanisms, impact on bacteria, and role in evolutionary success. **Trends Microbiol** ;22:438–445, 2014.
 40. Kohanski MA, Dwyer DJ, Collins JJ. How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. **Nat Rev Microbiol**;8:423–435. 2010.
 41. Aboul-Fadl T, Radwan AA, Abdel-Aziz HA, Baseeruddin M, Attia MI, Kadi A. Novel Schiff bases of indoline-2,3-dione and nalidixic acid hydrazide: Synthesis, *in vitro* antimycobacterial and in silico *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) DNA gyrase inhibitory activity. Dig **J. Nanomater Bios.**;7(1):329–338. 2012.
 42. Pham TDM, Ziora ZM, Blaskovich MAT. **Quinolone antibiotics.** Medchemcomm. 2019;10(10):1719–39.
 43. Toding SDS, Simbala HEI, Mpila DA. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Kacaporin (*Gardenia Augusta*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli* Dan *Salmonella Thypi*. **Pharmacon.** 2020;9(2):268.
 44. Davis, W.W. And Stoud, T. R. Disc Plate Methods Of Microbiological Antibiotic Assay. **Journal of Microbiology.** 22(4): 666-670. 2009.

